

**Efektifitas Penambahan Vitamin C Dalam Pengencer Susu Skim Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Boer setelah Penyimpanan Dingin***Effectiveness of Adding Vitamin C in Skim Milk Egg Yolk Diluent for Quality Boer Goat Spermatozoa after Cold Storage***T. M. Lubis<sup>1</sup>, Dasrul<sup>2</sup>, C. N. Thasmi<sup>2</sup>, dan T. Akbar<sup>3</sup>**<sup>1</sup>Laboratorium Fisiologi Hewan FKH, Univeritas Syiah Kuala Banda Aceh<sup>2</sup>Laboratorium Reproduksi & Kebidanan, FKH, Univeritas Syiah Kuala Banda Aceh<sup>3</sup>Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, FKH, Univeritas Syiah Kuala Banda Aceh**ABSTRAK**

Penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur terhadap kualitas spermatozoa kambing Boer setelah pendinginan. Semen ditampung dari 2 ekor pejantan umur 1,5 – 2 tahun sehat, menggunakan elektro ejakulator. Semen yang berkualitas baik dibagi dalam 4 kelompok perlakuan penambahan vitamin C ; 0,00 gr/100ml (P<sub>0</sub>); 0,10 gr/100ml (P<sub>1</sub>); 0,20 gr/100ml (P<sub>2</sub>) dan 0,30 gr/100ml (P<sub>3</sub>), dalam pengencer susu skim kuning telur, dan disimpan dalam suhu 4 - 5 °C. Pengamatan daya tahan hidup, motilitas dan membran plasma utuh (MPU) spermatozoa dilakukan setiap hari sampai selama 5 hari. Data yang diperoleh dianalisa dengan *analysis of variance* (ANOVA) pola satu arah yang dilanjutkan dengan uji berganda Duncant. Hasil pengamatan daya tahan hidup spermatozoa setelah pendinginan pada perlakuan P<sub>0</sub>; P<sub>1</sub>; P<sub>2</sub> dan P<sub>3</sub> secara berturut-turut adalah 2,2 hr, 2,6 hr, 4,2 hr dan 3,4 hr. Rata-rata persentase motilitas setelah pendinginan selama 4 hari (96 jam) adalah sebesar 14,00 ± 9,62 %; 22,00 ± 13,51 %; 40,20 ± 3,35 % dan 36,20 ± 6,30 %. Persentase MPU sebesar 36,60 ± 1,52 %, 40,80 ± 7,19 %, 50,00 ± 6,12 % dan 47,00 ± 7,87 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dalam susu skim kuning telur berpengaruh secara nyata (P<0,05) terhadap daya tahan hidup, persentase motilitas dan MPU spermatozoa. Penambahan vitamin C 0,2 gr/100 ml dalam pengencer susu skim kuning telur menghasilkan daya tahan hidup, persentase motilitas dan MPU spermatozoa kambing boer yang lebih baik setelah penyimpanan dingin.

Kata Kunci : vitamin C, susu skim, kuning telur, kualitas sperma, kambing boer

**ABSTRACT**

This study aims to determine the effect of vitamin C addition into skim milk-egg yolk diluent on quality of Boer goat sperm after cooling. Semen was collected from 2 healthy males aged 1.5-2.0 years, using electro ejakulator. Good quality semen was divided into 4 groups: addition of vitamin C 0.00 gr/100 ml (P<sub>0</sub>), 0.10 gr/100 ml (P<sub>1</sub>), 0.20 gr/100 ml (P<sub>2</sub>) and 0.30 gr/100 ml (P<sub>3</sub>) into the skim milk- egg yolk diluent, and stored in a temperature of 4-5°C. Observations of sperm viability, motility, and intact plasma membrane were done every day up to day 5. The data obtained was analyzed with the one-way analysis of variance (ANOVA), followed by multiple test Duncan. Results show sperm viability after cooling in the groups P<sub>0</sub>; P<sub>1</sub>; P<sub>2</sub> and P<sub>3</sub> respectively was 2.2 days, 2.6 days, 4.2 days and 3.4 days. The average percentage of sperm motility after cooling for 4 days (96 hours) is 14.00 ± 9.62%, 22.00 ± 13.51%, 40.20 ± 3.35% and 36.20 ± 6.30%. The percentage of intact plasma membrane is 36.60 ± 1.52%, 40.80 ± 7.19%, 50.00 ± 6.12% and 47.00 ± 7.87%. The results show that the addition of vitamin C in skim milk-egg yolk diluent affects significantly (P<0.05) sperm viability, the percentage of sperm motility and intact plasma membrane. The addition 0.2 gr/100 ml vitamin C into skim milk-egg yolk diluent after cold storage results greater sperm viability, motility, and intact plasma membrane.

Key words : vitamin C, skim milk, egg yolk, sperm quality, Boer goat

## PENDAHULUAN

Kambing merupakan salah satu jenis ternak ruminansia yang berperan penting dalam penyediaan daging pada masyarakat di Propinsi Aceh. Namun demikian populasi dan mutu genetik ternak kambing cenderung menurun dari tahun ketahun. Berdasarkan laporan Dinas Kesehatan Hewan dan Peternakan TK I Propinsi Aceh tahun 2007, populasi ternak kambing di Propinsi Aceh tahun 2006 berjumlah 48.832 ekor, jumlah ini jauh menurun dibandingkan daripada tahun 2002 yaitu 68.646 ekor. Tingginya tingkat penurunan populasi ternak kambing ini selain disebabkan oleh akibat tingginya tingkat pemotongan, juga disebabkan pengelolaan yang kurang baik yang berakibat rendahnya tingkat produktivitas ternak kambing lokal (Anonimus, 2007).

Salah satu upaya perbaikan mutu genetik ternak kambing di propinsi Aceh dilakukan melalui perkawinan silang antara ternak kambing betina lokal dengan ternak kambing pejantan unggul. Namun perkawinan silang dengan pejantan unggul ternyata masih menghadapi kendala karena terbatasnya pejantan unggul dan mahalnya harga pejantan, sehingga sulit terjangkau oleh para peternak dipedesaan. Keterbatasan ini dapat diatasi melalui pemanfaatan teknologi reproduksi inseminasi buatan (IB), yang mampu meningkatkan produktivitas dan mempercepat penyebaran populasi ternak dengan mutu genetik yang lebih baik, juga diharapkan akan dapat mengoptimalkan fungsi seekor pejantan. Penerapan teknologi IB pada kambing dapat menggunakan semen beku maupun semen cair yang diperbanyak volumenya sehingga dapat dimanfaatkan untuk melayani beberapa betina dalam kurun waktu yang lebih lama.

Penggunaan semen cair untuk IB pada ternak kambing masih menimbulkan banyak permasalahan, terutama menyangkut penggunaan jenis pengencer yang tepat sehingga mampu mempertahankan motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa selama pengenceran dan inseminasi pada betina. Keberadaan enzim *fosfolipase A2* (sebagai enzim yang menghidrolisis lesitin kuning telur) di dalam plasma semen kambing

menyebabkan terjadinya reaksi akrosom dini sehingga spermatozoa lebih cepat rusak (Hafez, 2004).

Susu skim merupakan medium isotonik yang mengandung beberapa komponen yang menguntungkan untuk memelihara kelangsungan hidup spermatozoa seperti karbohidrat, lemak dan mineral serta beberapa substansi pelindung lesitin untuk proses oksidasi metabolisme spermatozoa (Salisbury dan VanDemark, 1985). Penggunaan susu skim sebagai pengencer sering dikombinasikan dengan kuning telur. Werdhany (2003) menyatakan semen kambing yang diencerkan dengan susu skim kuning telur menghasilkan daya tahan hidup spermatozoa yang lebih baik dari air kelapa kuning telur. Namun penggunaan pengencer susu skim kuning telur pada spermatozoa kambing belum memberikan hasil fertilitas yang baik. Kondisi tersebut diduga berkaitan dengan ketidakmampuan pengencer susu skim kuning telur untuk mencegah kerusakan membran spermatozoa yang disebabkan oleh peroksidasi lipid. Disamping itu tingginya rasio antara asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh, komposisi fosfolipid membran serta rendahnya kolesterol membuat membran spermatozoa kambing mudah mengalami cekaman dingin dan menjadi lebih rentan terhadap kerusakan akibat peroksidasi yang dapat merusak komponen struktural membran (White, 1993 dan Dasrul 2006). Upaya untuk meminimalkan kerusakan membran spermatozoa akibat peroksidasi lipid selama proses pendinginan dapat dilakukan dengan penambahan antioksidan pada bahan pengencer (Alawiyah dan Hartono, 2006; Feradis, 2009).

Vitamin C (*asam ascorbat*) merupakan salah satu vitamin yang bersifat sebagai anti oksidan yang larut dalam air. Vitamin C mampu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi rantai, sehingga dapat menghindari kerusakan peroksidatif yang berpengaruh terhadap viabilitas dan fertilitas spermatozoa. Selain itu asam ascorbat juga dapat berperan sebagai salah satu zat pereduksi dalam sisten oksidan reduksi (Chinoy et al., 1991 dan Combs,

1992). Hasil penelitian Aurich *et al.* (1997) menunjukkan bahwa penambahan vitamin C sampai 2,5 mMolar pada pengencer semen kuda dapat meningkatkan motilitas dan mempertahankan integritas membran plasma spermatozoa kuda yang disimpan pada suhu 5 °C . Hal yang sama juga dilaporkan oleh Sumargono (1998) pada semen kerbau lumpur menunjukkan kecenderungan peningkatan viabilitas spermatozoa dengan meningkatnya dosis vitamin C dalam pengencer susu skim. Sampai saat ini pengaruh penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim terhadap kualitas spermatozoa kambing peranakan Boer masih sangat terbatas. Sehubungan dengan itu telah dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur terhadap kualitas spermatozoa kambing Boer. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi lebih lanjut tentang pengembangan pengenceran semen dengan penambahan vitamin C sebagai bahan pelindung terhadap reaksi peroksidasi lipid yang dapat merusak membran sel, sehingga dapat mempertahankan kualitas semen kambing peranakan Boer selama pendinginan.

## MATERI DAN METODE

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di exfarm Peternakan dan laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh yang di rencanakan pada awal bulan 10 Juni - 25 September 2009

### Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah kandang, elektro ejakulator, mikroskop elektrik biokuler, centrifuge, pipet tetes, gunting, termos es, backer glass, gelas objek, stopwach, labu erlenmeyer, tabung reaksi, tabung centrifuge, tissue, haemocytometer dan refreegerator.

Bahan yang di gunakan adalah semen segar kambing peranakan Boer, pengencer susu skim, vitamin C, eosin-nigrosin, aquadest, kuning telur, alkohol 70

% larutan hypoosmotik 0,032 M (dibuat dari 7,35gr Na Citrat 2H<sub>2</sub>O, 13,52gr fruktosa yang dilarutkan dalam 1 liter aquades).

### Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan sejumlah sampel semen segar kambing peranakan Boer yang diencerkan dalam susu skim kuning telur dengan penambahan vitamin C (0,0 gr /100 Pengencer; 0,1 gr/100 Pengencer; 0,2 gr/100 Pengencer; 0,3 gr/100 Pengencer). Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL).

### Prosedur Penelitian

#### a. Pembuatan Bahan Pengenceran Semen

Larutan pengencer yang digunakan adalah susu skim – kuning telur, yang terdiri dari susu skim; kuning telur; fruktosa; penicillin dan streptomisin. Susu skim sebelum digunakan terlebih dahulu dilarutkan dengan aquades dengan perbandingan 1 : 9 dan dipanaskan hingga 92 °C selama 10 menit untuk menghilangkan biopotensi laktenin. Selanjutnya susu skim tersebut didinginkan dan ditambahkan fruktosa 3 g/100ml; penicillin 1000 IU/ml, streptomisin 1000 ug/ml dan kuning telur 20 %. Semua bahan pengencer yang dibuat volumenya 100 ml.

#### b. Penampungan Semen dan Evaluasi Semen

Sampel semen yang akan digunakan diambil dari Kambing Peranakan Boer Jantan, sehat berumur 4 – 5 tahun dengan cara penampungan menggunakan elektro ejakulator. Penampungan semen dilakukan pada pagi hari jam 8.00 – 9.00 WIB, sebanyak 1 kali dalam seminggu.

Segera setelah penampungan semen dilakukan pemeriksaan kualitas secara makroskopis (volume, warna, konsistensi, bau, dan pH) dan mikroskopis (konsentrasi spermatozoa, persentase motilitas spermatozoa, persentase spermatozoa hidup, persentase membran plasma spermatozoa utuh dan persentase tudung akrosom spermatozoa utuh). Semen yang mempunyai konsentrasi spermatozoa > 600 x 10<sup>6</sup>/ml dan motilitas progresif > 70 % , abnormalitas < 20 % digunakan sebagai sampel.

c. Pengenceran Semen

Segera setelah dilakukan evaluasi terhadap kualitas semen segar, dibagi dalam 4 kelompok perlakuan pengencer susu skim kuning telur yang telah ditambahkan vitamin C berbagai dosis perlakuan. Semen yang diencerkan pada pengencer dasar susu skim kuning telur (SSKT) tanpa penambahan vitamin C (Po); pengencer Susu skim

kuning telur dengan penambahan vitamin C konsentrasi 0,1 gr/100 ml Pengencer (P1); pengencer Susu skim kuning telur dengan penambahan vitamin C 0,2 gr/100 ml Pengencer (P2); pengencer Susu skim kuning telur dengan penambahan vitamin C konsentrasi 0,3 gr/100 ml Pengencer (P3). Komposisi masing pengencer tertera pada Tabel.

No	Perlakuan	Volume (ml)	Komposisi Vitamin C (gr)
1	Po	100	0,0
2	P1	100	0,1
3	P2	100	0,2
4	P3	100	0,3

Jumlah bahan pengencer yang akan ditambahkan ke masing-masing semen dihitung dengan rumus:

$$\text{Jumlah Pengencer} = \frac{\text{Volume semen (ml)} \times \text{Konsentrasi Semen} \times \text{Motilitas}}{\text{Konsentrasi semen yang diinginkan}}$$

Volume masing-masing pengenceran yang pertama kali ditambahkan pada semen sesuai dengan volume semen yang diperoleh. Selanjutnya ditambahkan sedikit demi sedikit sampai volume yang diinginkan terpenuhi. Konsentrasi semen yang diinginkan adalah 10 juta spermatozoa/ml. Jarak waktu antara penampungan semen sampai pengenceran tidak lebih dari 15 menit seperti yang dianjurkan oleh Balai Inseminasi Buatan (BIB)

Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan menurut standart baku BIB singosari (Zenichero dkk. 2002). Persentase spermatozoa yang motil ditentukan dengan menghitung jumlah persentase spermatozoa yang bergerak secara progresif (bergerak ke depan) pada lima lapang pandang mikroskop cahaya pembesaran 400 x (Rasul et al., 2001). Angka yang diberikan berkisar antara 0 dan 100% .

d. Pendinginan Semen

Segera setelah semen di encerkan dengan masing-masing kelompok perlakuan, lalu di masukkan dalam opendorf (1,5 ml) dan selanjutnya dilakukan pendinginan dalam lemari pendingin.

3. Pemeriksaan Integritas Membran Plasma Spermatozoa

1. Pemeriksaan Daya tahan hidup Spermatozoa

Pemeriksaan Daya tahan hidup Spermatozoa dilakukan setiap hari (setiap 24 jam) sampai motilitas spermatozoa menurun mencapai minimal 40 % spermatozoa bergerak aktif menuju ke depan (progresif). Sedangkan persentase motilitas dibawah 40 % tidak lagi dilakukan pengamatan.

Pemeriksaan integritas membran plasma spermatozoa dilakukan berdasarkan uji pembengkakan atau *hyposmotik swelling test* (HOS-Test) sebagaimana yang dikembangkan oleh Rasul et al., (2001). Sebanyak 0,1 ml suspensi sperma hasil pencucian ditambahkan ke dalam 0,9 ml larutan hyposmotik 0,032 m (yang dibuat dari 7,35gr Na Citrat 2H<sub>2</sub>O, 13,52 gr fruktosa yang dilarutkan dalam 1 liter aquadest) dan diinkubasikan selama 1 jam di dalam inkubator pada suhu 37° C, selanjutnya dibuat preparat ulas tipis dengan mencampurkan 1 tetes larutan di atas dengan 1 tetes eosin nigrosin, diamati dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400X. Spermatozoa dihitung

2. Pemeriksaan Persentase Motilitas Spermatozoa

dengan cara berurutan atau zig zag sampai 10 lapang pandang atau jumlah spermatozoa 100 – 200. Spermatozoa yang memiliki integritas membran plasma yang utuh ditandai dengan adanya pembengkakan kepala yang diikuti dengan ekor berputar dengan pancaran warna terang, sedangkan spermatozoa yang membran plasmanya sudah rusak ditandai dengan tidak ada pembengkakan kepala dan ekor yang lurus.

### Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap pola searah dengan 4 kelompok perlakuan dosis vitamin C (0,0 gr/100 ml Pengencer; 0,1 gr/100 ml Pengencer; 0,2 gr/100 ml Pengencer; 0,3 gr/100 ml Pengencer). Data persentase kualitas spermatozoa yang diperoleh dianalisa dengan uji beda ANAVA, dan bila

terdapat perbedaan, maka selanjutnya dilakukan uji berganda Duncant (Steel dan Torrie, 1990).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Kualitas Semen Segar Kambing Peranakan Boer

Sebagai dasar untuk menentukan kelayakan semen untuk diolah adalah hasil evaluasi kualitas segar. Persyaratan yang harus dipenuhi agar semen segar layak diolah meliputi volume dan pH semen, gerakan massa, konsentrasi, motilitas progresif, dan abnormalitas sperma serta sejumlah ukuran biokimia lainnya. Hasil pemeriksaan kualitas semen segar kambing Peranakan Boer setelah koleksi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kualitas semen segar kambing peranakan Boer setelah koleksi.

Parameter	Hasil Pengamatan
Volume (ml)	1,05 ± 0,15
Warna	Krem keputih-putihan
Konsistensi	Kental
Gerak massa	+++
pH	6,53 ± 0,15
Motilitas (%)	76,67 ± 5,77
Konsentrasi (10 <sup>9</sup> / ml)	2.17 ± 0,08
Persentase spermatozoa hidup (%)	87,54 ± 2,18.
Abnormalitas (%)	6,38 ± 1,96
Integritas Membran (%)	83,67 ± 3,58

#### a. Volume semen

Rata-rata volume kambing peranakan Boer dari 5 ejakulat yang digunakan pada penelitian ini adalah 1,05 ± 0,15 ml, dengan kisaran antara 0,9 – 1,2 ml. Nilai ini lebih rendah dengan hasil yang dilaporkan Suyadi (2003) yakni 1,6 – 2,0 ml dengan menggunakan elektroejakulator, tetapi relatif sama dengan hasil yang dilaporkan Isnaini (2006) yaitu 0,81 ± 0,33 ml dengan menggunakan vagina buatan. Adanya perbedaan nilai rata-rata volume semen tersebut sangat dipengaruhi oleh kondisi masing-masing individu (variasi individu) seperti kualitas reproduksi, umur dan kondisi ternak serta metode koleksi yang digunakan. Sebagaimana dikemukakan oleh Toelihere (1985), kualitas dan kuantitas

semen segar dipengaruhi oleh umur, kualitas pakan, berat badan, kondisi dan bangsa ternak.

#### b. Warna, Konsistensi dan Konsentrasi

Rata-rata warna semen yang diperoleh berwarna putih susu atau krem keputihan dan konsistensinya berkisar antara sedang sampai kental (rata-rata agak kental). Hasil ini juga serupa dengan yang dilaporkan Suyadi (2001) bahwa warna semen segar kambing peranakan boer adalah krem keputihan atau putih susu dengan konsistensi rata-rata agak kental.

Rata-rata konsentrasi spermatozoa yang di dapatkan dari 5 ejakulat kambing peranakan Boer adalah sebesar 2.17 ± 0,08 x10<sup>9</sup>./ml. Hasil ini sesuai dengan dengan

kisaran konsentrasi spermatozoa untuk setiap ml semen yang dilaporkan Suyadi (2004) bahwa semen kambing peranakan Boer yang dipelihara di Indonesia (Malang) memiliki konsentrasi rata-rata sebesar  $2,67 \times 10^9$  /ml. Akan tetapi hasil penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan yang dilaporkan oleh Gang Yi dkk. (2001) yaitu sebesar  $5,560 \pm 0,36 \times 10^9$  /ml pada kambing Boer yang dipelihara di China. Adanya perbedaan ini diduga disebabkan oleh variasi individu, umur dan pola pemeliharaan.

#### c. Derajat Keasaman (pH)

Rata-rata derajat keasaman semen kambing peranakan Boer yang diperoleh pada penelitian ini adalah  $6,53 \pm 0,15$ . Hasil ini hampir sama dengan yang diperoleh Suyadi (2003) bahwa pH semen kambing peranakan Boer di Indonesia rata-rata 6,2 sampai 6,9.

#### d. Motilitas dan Spermatozoa Hidup

Persentase motilitas dan hidup spermatozoa semen segar kambing peranakan Boer yang diperoleh adalah  $76,67 \pm 5,77$  % dan  $87,54 \pm 2,18$  %. Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan Isnaini (2006) bahwa persentase motil dan hidup spermatozoa kambing peranakan Boer di Indonesia adalah sebesar  $74,50 \pm 3,69$  % dan  $88,03 \pm 3,07$  %.

Berdasarkan hasil penilaian semen segar pada tabel 1 diatas, dapat disimpulkan bahwa semen segar kambing peranakan Boer yang digunakan pada penelitian ini

mempunyai kategori baik dan memenuhi syarat untuk digunakan sebagai sampel semen untuk dibekukan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Toelihere (1985) dan Balai Inseminasi Buatan Dirjen Peternakan bahwa terdapat beberapa persyaratan yang harus dipenuhi dalam proses pendinginan atau pembekuan semen kambing adalah perkiraan motilitas minimal 70 %, konsentrasi lebih dari 2000 juta per milliliter semen dan abnormalitas tidak kurang dari 20 %, persentase hidup spermatozoa minimal 75 %, abnormalitas tidak lebih dari 20 % dan semen memiliki gerakan massa ++/+++.

#### Pengaruh Perlakuan Terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Daya tahan hidup spermatozoa yang dimaksud adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup selama penyimpanan yang diperlihatkan melalui sanggunya bergerak sampai tidak adanya pergerakan lagi. Namun daya tahan hidup spermatozoa yang diamati dalam penelitian ini adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup selama motilitas spermatozoanya masih berada diatas motilitas spermatozoa layak IB, yakni minimal 40 %. Sedangkan persentase motilitas dibawah 40 % tidak lagi dilakukan pengamatan. Rata-rata daya tahan hidup spermatozoa semen cair kambing peranakan Boer yang diamati dari keempat perlakuan penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata ( $\pm$  SD) daya tahan hidup spermatozoa kambing peranakan Boer setelah pendinginan dalam susu skim kuning telur dengan penambahan vitamin C

Perlakuan	Ulangan	Daya tahan hidup spermatozoa (hari)
P0	5	$2,2 \pm 0,45^a$
P1	5	$2,6 \pm 0,55^a$
P2	5	$4,2 \pm 0,45^b$
P3	5	$3,4 \pm 0,55^c$

Ket : - Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ ).

Tabel 3 memperlihatkan bahwa pada pengencer susu skim-kuning telur dengan penambahan vitamin C dosis 0,2 gr/100 ml (P2) menghasilkan daya tahan hidup spermatozoa kambing peranakan Boer yang

lebih lama, yakni 4,2 hari kemudian diikuti oleh pengencer susu skim – kuning telur dengan penambahan vitamin C dosis 0,3 gr/100 ml (P3), yakni selama 3,4 hari; lalu bahan pengencer susu skim-kuning telur

dosis 0,1 g/100 ml (P1) dan kontrol (P0) masing-masing secara berturut-turut sebesar 2,6 dan 2,2 hari. Hasil daya tahan hidup spermatozoa yang diperoleh pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh beberapa peneliti terdahulu seperti Muhaji (2003) yang mendapatkan bahwa spermatozoa dalam semen cair kambing PE dalam pengencer susu kambing segar yang disimpan pada suhu 4 C selama  $6,30 \pm 0,65$  hari. Sedangkan Suyadi dkk. (2003) yang mendapatkan daya tahan hidup spermatozoa dalam semen cair kambing PE dalam pengencer susu skim kuning telur selama  $7,4 \pm 0,85$  hari. Adanya perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan spesies, umur hewan dan bahan pengencer yang digunakan.

Hasil analisis statistik menggunakan *analisis of variance* (ANOVA) pola satu arah yang dilanjutkan dengan uji berganda Duncant terhadap daya tahan hidup spermatozoa menunjukkan bahwa penambahan vitamin C (0,0 gr/100 ml ; 0,1 gr/100 ml; 0,2 gr/100 ml dan 0,3 gr/100 ml ) memberikan pengaruh yang nyata ( $p>0,05$ ) terhadap daya tahan hidup spermatozoa kambing peranakan Boer. Fakta ini mengindikasikan bahwa penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim dapat mempengaruhi daya tahan hidup spermatozoa kambing peranakan Boer. Keadaan ini juga menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim dapat mempengaruhi metabolisme dan fisiologis spermatozoa.

Hasil uji berganda Duncant menunjukkan bahwa persentase motilitas spermatozoa pada kelompok P2 lebih tinggi secara nyata ( $p<0,05$ ) dibandingkan dengan P3 dan lebih tinggi secara sangat nyata ( $p<0,01$ ) dibandingkan dengan P1 dan P0. Perlakuan P3 lebih tinggi secara nyata

( $p<0,05$ ) dibandingkan dengan P1 dan lebih tinggi secara sangat nyata ( $p<0,01$ ) dibandingkan dengan P0. Sedangkan perlakuan P1 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p>0,05$ ) dibandingkan dengan P0. Fakta ini membuktikan bahwa selama proses pendinginan sudah terjadi interaksi antara komponen-komponen pengencer semen dengan spermatozoa. Selain itu komponen pengencer semen termasuk vitamin C sudah mempengaruhi metabolisme dan kondisi fisiologis spermatozoa. Hal ini mungkin disebabkan karena penambahan vitamin C dalam bahan pengencer susu skim kuning telur 20 % sumber energi bagi proses metabolisme dan motilitas spermatozoa. Sekalipun demikian apabila dilihat dari tingkat kecenderungan penurunan daya hidup yang diperlihatkan melalui persentase motilitas hariannya dapat dijelaskan bahwa semen cair yang diencerkan dengan susu skim-kuning telur dengan penambahan vitamin C dalam berbagai tingkat penurunannya tidak terlalu drastis.

#### **Pengaruh Perlakuan Terhadap Persentase Motilitas Spermatozoa**

Motilitas atau daya gerak progresif spermatozoa sesudah proses pendinginan selalu digunakan sebagai pegangan yang termudah dalam penilaian semen untuk inseminasi buatan dengan semen cair. Daya gerak progresif ini mempunyai peranan yang penting untuk keberhasilan fertilisasi. Kecepatan gerakan spermatozoa untuk masing-masing spesies berbeda dan bervariasi sesuai dengan kondisi medium dan suhu lingkungan (Toelihere, 1985; Hafez, 2004). Rata-rata persentase motilitas spermatozoa kambing peranakan Boer setelah pendinginan dalam empat kelompok perlakuan pengencer dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata ( $\pm$  SD) persentase motilitas spermatozoa kambing peranakan Boer setelah pendinginan dalam susu skim kuning telur dengan penambahan vitamin C (%)

Waktu Pengamatan	Perlakuan			
	P <sub>0</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
0 jam	76,80 $\pm$ 4,66 <sup>a</sup>	78,20 $\pm$ 2,05 <sup>a</sup>	78,40 $\pm$ 3,21 <sup>a</sup>	76,20 $\pm$ 4,15 <sup>a</sup>
24 jam	54,00 $\pm$ 4,18 <sup>a</sup>	57,80 $\pm$ 2,28 <sup>a</sup>	61,60 $\pm$ 3,21 <sup>b</sup>	60,80 $\pm$ 2,59 <sup>b</sup>
48 jam	49,00 $\pm$ 3,08 <sup>a</sup>	50,20 $\pm$ 3,96 <sup>a</sup>	57,20 $\pm$ 3,11 <sup>c</sup>	47,20 $\pm$ 4,97 <sup>c</sup>
72 jam	35,00 $\pm$ 6,12 <sup>a</sup>	41,00 $\pm$ 8,22 <sup>b</sup>	47,20 $\pm$ 4,97 <sup>c</sup>	41,80 $\pm$ 5,81 <sup>b</sup>
96 jam	14,00 $\pm$ 9,62 <sup>a</sup>	22,00 $\pm$ 13,51 <sup>b</sup>	40,20 $\pm$ 3,35 <sup>c</sup>	36,20 $\pm$ 6,30 <sup>d</sup>

Ket : - Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ ).

Berdasarkan Tabel 4 dapat dilihat bahwa rata-rata persentase motilitas spermatozoa kambing peranakan Boer selama proses pendinginan dalam berbagai pengencer mengalami penurunan. Penurunan persentase motilitas spermatozoa seiring dengan lama waktu pendinginan, makin lama waktu pendinginan makin rendah persentase motilitas individu spermatozoa yang diperoleh. Hal ini diduga disebabkan oleh semakin berkurangnya ketersediaan energi dalam bahan pengencer, semakin menuanya umur spermatozoa dan meningkatnya tingkat keasamaan (pH) semen serta semakin bertambahnya jumlah spermatozoa yang rusak dan mati akibat pendinginan. Rataan tingkat penurunan persentase pergerakan progresif spermatozoa pada tiap perlakuan tidak sama, dan terlihat bahwa semen dalam bahan pengencer Susu skim dengan penambahan vitamin C 0,2 gr/100 ml pengencer (P2) masih memperlihatkan persentase pergerakan progresif diatas motilitas layak IB (didas 40 %) hingga jam ke 96 penyimpanan. Sedangkan semen dalam pengencer susu skim dengan penambahan kuning telur 0,1 gr/100 ml pengencer (P1) dan 0,3 gr/100 ml pengencer (P3) bertahan hingga sampai jam ke 72 setelah pendinginan. Meskipun demikian dalam pelaksanaan IB sebaiknya semen cair yang masih layak IB perlu dibatasi penggunaannya hanya pada semen yang lama penyimpanannya minus satu hari untuk menghindari kemungkinan unsur subyektif yang digunakan dalam menentukan motilitas spermatozoa.

Penurunan persentase motilitas spermatozoa setelah pendinginan disebabkan oleh semakin sedikitnya spermatozoa yang memiliki cadangan energi yang cukup untuk digunakan bergerak, karena spermatozoa yang telah mengalami cekaman dingin (suhu rendah) dapat mengalami destabilisasi membran. Destabilisasi membran akan meningkatkan permeabilitas membran terhadap ion-ion, termasuk ion kalsium sehingga akan berakibat terhadap meningkatnya ion kalsium dalam sitosol yang diikuti dengan meningkatnya ion kalsium dalam mitokondria. Meningkatnya konsentrasi ion kalsium dalam mitokondria ini akan menurunkan sintesa ATP dalam mitokondria sehingga cadangan energi yang dapat digunakan untuk motilitas spermatozoa akan menurun (Simpson dan Russel, 1998). Selain itu, penyimpanan dalam jangka waktu lama menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa akibat adanya asam laktat sisa metabolisme sel yang menyebabkan kondisi medium menjadi semakin asam. Kondisi ini dapat bersifat racun bagi spermatozoa yang akhirnya menyebabkan kematian sperma (Sugiarti dkk., 2004). Einarsson (1992) menyatakan bahwa proses cooling, freezing dan thawing sangat mempengaruhi stabilitas dan fungsi-fungsi hidup sel membran. Penurunan kualitas spermatozoa diatas terjadi karena adanya kerusakan struktur membran selama pendinginan sehingga proses metabolisme spermatozoa terganggu (Susilawati, 2005).

Hasil *analysis of variance* (ANOVA) pola satu arah yang dilanjutkan dengan uji berganda Duncant terhadap persentase

motilitas spermatozoa menunjukkan bahwa pada pengamatan jam ke 0 penambahan vitamin C (0,0 gr/100 ml pengencer; 0,1 gr/100 ml pengencer; 0,2 gr/100 ml pengencer dan 0,3 gr/100 ml pengencer) tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $p>0,05$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa kambing peranakan Boer. Fakta ini mengindikasikan bahwa penambahan kuning telur dalam pengencer susu skim belum mempengaruhi motilitas spermatozoa kambing peranakan Boer. Keadaan ini juga menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur belum mempengaruhi metabolisme dan fisiologis spermatozoa. Kondisi ini sesuai dengan yang dilaporkan Suyadi dkk. (2003) bahwa setelah pengenceran tidak ada perubahan yang nyata pada kualitas spermatozoa kambing Boer.

Setelah dilakukan pendinginan selama 24 jam terlihat bahwa penambahan vitamin C berpengaruh secara sangat nyata ( $p<0,01$ ) terhadap persentase motilitas individu spermatozoa kambing peranakan Boer. Persentase motilitas spermatozoa pada kelompok P2 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p>0,05$ ) dibandingkan dengan P3 dan P1, akan tetapi lebih tinggi secara sangat nyata ( $p<0,01$ ) dibandingkan dengan P0. Perlakuan P3 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p>0,05$ ) dibandingkan dengan P1, namun lebih tinggi secara sangat nyata ( $p<0,01$ ) dibandingkan dengan P0. Sedangkan perlakuan P1 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p>0,05$ ) dibandingkan dengan P0. Fakta ini membuktikan bahwa selama proses pendinginan sudah terjadi interaksi antara komponen-komponen pengencer semen dengan spermatozoa. Selain itu komponen pengencer semen termasuk vitamin C sudah mempengaruhi metabolisme dan kondisi fisiologis spermatozoa

Sedangkan pada pengamatan jam ke 48 setelah pendinginan, dimana penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur berpengaruh secara sangat nyata ( $p<0,01$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa kambing peranakan Boer. Persentase motilitas spermatozoa pada kelompok P2 lebih tinggi secara nyata

( $p<0,05$ ) dibandingkan dengan P3 dan lebih tinggi secara sangat nyata ( $p<0,01$ ) dibandingkan dengan P1 dan P0. Sedangkan persentase motilitas spermatozoa pada P3 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p>0,05$ ) dibandingkan dengan P1 dan P0. Persentase motilitas spermatozoa pada P1 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p>0,05$ ) dibandingkan dengan P0.

Pada pengamatan jam ke 72 setelah pendinginan, juga terlihat bahwa penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur berpengaruh secara nyata ( $p<0,05$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa kambing peranakan Boer. Persentase motilitas spermatozoa pada kelompok P2 lebih tinggi secara sangat nyata ( $p<0,01$ ) dibandingkan dengan P3, P1 dan P0. Persentase motilitas spermatozoa pada P3 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p>0,05$ ) dibandingkan dengan P1, namun lebih tinggi secara sangat nyata ( $p<0,01$ ) dibandingkan dengan P0. Persentase motilitas spermatozoa pada P1 lebih tinggi secara sangat nyata ( $p<0,01$ ) dibandingkan dengan P0.

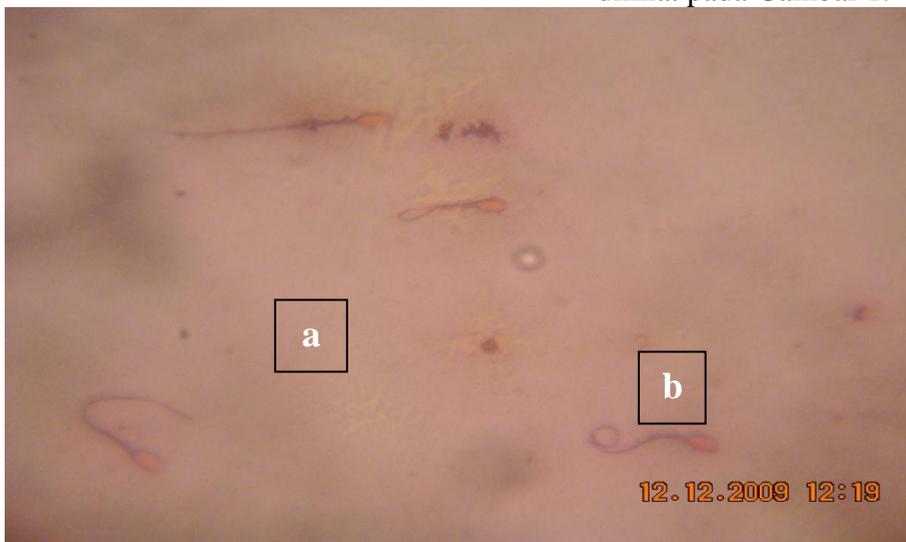
Sedangkan pada pengamatan jam ke 96 setelah pendinginan, juga terlihat bahwa penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur berpengaruh secara nyata ( $p<0,05$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa kambing peranakan Boer. Persentase motilitas spermatozoa pada kelompok P2 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p>0,05$ ) dibandingkan dengan P3 dan lebih tinggi secara nyata ( $p<0,05$ ) dibandingkan dengan P1, serta lebih tinggi secara sangat nyata ( $p<0,01$ ) dibandingkan dengan P0. Persentase motilitas spermatozoa pada P3 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p>0,05$ ) dibandingkan dengan P1 dan lebih tinggi secara sangat nyata ( $p<0,01$ ) dibandingkan dengan P0. Persentase motilitas spermatozoa pada P1 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p>0,05$ ) dibandingkan dengan P0. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur berpengaruh terhadap persentase motilitas spermatozoa kambing peranakan Boer. Persentase motilitas spermatozoa tertinggi diperoleh pada penambahan 0,2 gr/100 ml pengencer,

sedangkan yang terendah diperoleh pada penambahan 0,1 gr/100 ml pengencer. Hasil ini membuktikan bahwa penambahan vitamin C dalam bahan pengencer dengan konsentrasi yang lebih tinggi justru menurunkan motilitas spermatozoa setelah pendinginan. Fakta tersebut mengindikasikan bahwa penambahan vitamin C ke dalam pengencer hanya dapat dilakukan dengan konsentrasi tidak melebihi 0,2 gr/100 ml pengencer. Keadaan tersebut diduga karena dengan penambahan vitamin C sampai 0,2 gr/100 ml pengencer terjadi optimalisasi laju fruktolisis sehingga kebutuhan energi untuk motilitas dan kelangsungan hidup dapat terpenuhi. Selain itu, diduga vitamin C dapat mengikat oksigen radikal yang terdapat di dalam sel, sehingga dapat mencegah terbentuknya peroksidasi lipid yang dapat menghambat glikolisis dan motilitas (Aurich dkk., 1997).

### Pengaruh Perlakuan Terhadap Persentase Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa

Integritas membran plasma harus tetap terjaga keutuhannya untuk mempertahankan kelangsungan hidup spermatozoa, motilitas dan kemampuan fertilisasi. Hal ini disebabkan karena membran plasma berfungsi sebagai pembatas sel kontineus, yang melindungi organel-organel sel dari kerusakan mekanik dan mengatur lalu lintas keluar masuknya zat-zat makanan serta ion-ion yang diperlukan dalam proses metabolisme. Kerusakan pada membran plasma mengakibatkan terganggunya proses metabolisme dan proses fisiologis, sehingga menyebabkan kematian pada spermatozoa (Rasul dkk., 2001).

Hasil pengamatan membran plasma utuh (MPU) spermatozoa dengan menggunakan metode *hypoosmotik swelling test* dan pewarnaan eosin negrosin yang diamati dengan mikroskop cahaya dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Integritas membran plasma spermatozoa kambing peranakan Boer kontrol yang diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 400 X; a) spermatozoa dengan membran plasma utuh b) spermatozoa dengan membran plasma rusak

Spermatozoa yang memiliki integritas membran plasma utuh dan hidup ditandai dengan adanya pembengkakan kepala yang diikuti ekor berputar dengan pancaran warna terang / putih ( a ). Sedangkan spermatozoa yang memiliki membran plasma rusak dan mati ditandai dengan ekor yang lurus dan tidak ada

pembengkakan kepala dengan pancaran warna merah ( b ).

Rata-rata persentase membran plasma utuh (MPU) spermatozoa kambing peranakan Boer yang diamati dengan metode *HOS-test* pada pengencer susu skim kuning telur dengan penambahan vitamin C terlihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rata-rata ( $\pm$  SD) Persentase MPU spermatozoa kambing peranakan Boer setelah pendinginan dalam susu skim kuning telur dengan penambahan vitamin C .

Waktu Pengamatan	Perlakuan			
	P <sub>0</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
0 jam	83,00 $\pm$ 2,92 <sup>a</sup>	80,40 $\pm$ 2,07 <sup>a</sup>	82,20 $\pm$ 3,11 <sup>a</sup>	84,20 $\pm$ 3,96 <sup>a</sup>
24 jam	71,60 $\pm$ 2,07 <sup>a</sup>	73,00 $\pm$ 3,46 <sup>a</sup>	78,20 $\pm$ 3,11 <sup>b</sup>	76,40 $\pm$ 2,61 <sup>b</sup>
48 jam	57,20 $\pm$ 3,49 <sup>a</sup>	58,40 $\pm$ 3,21 <sup>b</sup>	64,00 $\pm$ 3,81 <sup>c</sup>	63,80 $\pm$ 3,77 <sup>c</sup>
72 jam	47,00 $\pm$ 4,30 <sup>a</sup>	49,40 $\pm$ 6,23 <sup>a</sup>	60,20 $\pm$ 3,35 <sup>b</sup>	61,20 $\pm$ 2,59 <sup>b</sup>
96 jam	36,60 $\pm$ 1,52 <sup>a</sup>	40,80 $\pm$ 7,19 <sup>b</sup>	45,40 $\pm$ 6,27 <sup>c</sup>	43,60 $\pm$ 9,02 <sup>c</sup>

Ket : - Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ ).

Dari Tabel 5 dapat dilihat bahwa rata-rata MPU spermatozoa kambing peranakan Boer yang diencerkan dalam susu skim kuning telur dengan penambahan vitamin C berbagai konsentrasi mengalami penurunan selama proses pendinginan. Penurunan persentase MPU seiring dengan lama waktu pendinginan, makin lama waktu pendinginan makin rendah persentase hidup spermatozoa yang diperoleh.

Rendahnya angka persentase MPU spermatozoa setelah pendinginan dalam berbagai bahan pengencer kemungkinan disebabkan oleh terjadinya perubahan polaritas pengencer. Kondisi ini akan mempengaruhi destabilitas membran spermatozoa yang akan berakibat bertambahnya kematian sel. Selama proses pendinginan terjadi depolarisasi atom-atom atau molekul-molekul penyusun membran yang mengakibatkan destabilisasi membran sehingga dapat menurunkan fungsi fisiologis membran (Fuller dan Shields, 1998). Selanjutnya Azhar dkk. (2002) menyatakan bahwa ada beberapa hal yang menyebabkan kematian sel spermatozoa sehubungan dengan destabilisasi membran, diantaranya adanya perubahan susunan membran terutama susunan fosfolipid penyusun membran akibat cekaman dingin.

Pada pengamatan jam ke 0, penambahan vitamin C (0,0 gr/100 ml pengencer, 0,1 gr/100 ml pengencer, 0,2 gr/100 ml pengencer dan 0,3 gr/100 ml

pengencer) dalam susu skim kuning telur tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap persentase MPU spermatozoa kambing peranakan Boer. Fakta ini mengindikasikan bahwa vitamin C yang ditambahkan belum mempengaruhi metabolisme dan fisiologis spermatozoa. Kondisi ini sesuai dengan yang dilaporkan Sasongko (2004) dan Situmorang (1998) bahwa setelah pengenceran tidak ada perubahan yang nyata pada kualitas spermatozoa.

Hal yang sama juga terlihat setelah pendinginan selama 24 jam terlihat bahwa penambahan vitamin C tidak berpengaruh secara nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap persentase MPU spermatozoa kambing peranakan Boer. Fakta ini mengindikasikan bahwa vitamin C yang ditambahkan dalam pengencer susu skim kuning telur setelah pendinginan selama 24 jam proses pendinginan belum terjadi interaksi antara komponen-komponen bahan pengencer semen dengan spermatozoa.

Pada pengamatan jam ke 48 setelah pendinginan, dimana penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur berpengaruh secara nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap persentase MPU spermatozoa kambing peranakan Boer. Persentase MPU spermatozoa pada kelompok P<sub>2</sub> lebih tinggi secara tidak nyata ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan P<sub>3</sub> dan P<sub>1</sub>, lebih tinggi secara sangat nyata ( $p < 0,01$ ) dibandingkan dengan P<sub>0</sub>. Persentase MPU spermatozoa pada P<sub>3</sub> lebih

tinggi secara tidak nyata ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan P1 dan lebih tinggi secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan P0. Sedangkan perlakuan P1 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan P0.

Pada pengamatan jam ke 72 setelah pendinginan, dimana penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur berpengaruh secara sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap persentase MPU spermatozoa kambing peranakan Boer. Persentase MPU spermatozoa pada kelompok P3 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan P2 dan lebih tinggi secara sangat nyata ( $p < 0,01$ ) dibandingkan dengan P1 dan P0. Persentase MPU spermatozoa pada P2 lebih tinggi secara sangat nyata ( $p < 0,01$ ) dibandingkan dengan P1 dan P0. Sedangkan perlakuan P1 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan P0.

Hal yang sama juga terlihat pada pengamatan jam ke 96 setelah pendinginan, dimana penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur berpengaruh secara nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap persentase MPU spermatozoa kambing peranakan Boer. Persentase MPU spermatozoa pada kelompok P2 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan P3 dan lebih tinggi secara sangat nyata ( $p < 0,01$ ) dibandingkan dengan P1 dan P0. Persentase MPU spermatozoa pada P3 lebih tinggi secara sangat nyata ( $p < 0,01$ ) dibandingkan dengan P1 dan P0. Sedangkan perlakuan P1 lebih tinggi secara tidak nyata ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan P0.

Hasil penelitian ini sedikit berbeda dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Margono (2003) pada spermatozoa kerbau lumpur yang diencerkan dengan susu skim tambah vitamin C 0,40 g/100 ml setelah pendinginan, yang memperoleh persentase MPU spermatozoa sebesar  $54,20 \pm 3,95$  % setelah pencairan kembali. Adanya perbedaan persentase MPU spermatozoa yang ditemukan ini, kemungkinan disebabkan oleh perbedaan jenis hewan, umur, pola pemeliharaan dan dosis vitamin C yang digunakan. Pada penelitian ini kami menggunakan semen yang diperoleh dari kambing peranakan Boer umur 2 – 3 tahun,

dengan pola pemeliharaan yang dikendalikan secara individu. Pakan yang diberikan adalah campuran hijauan dengan konsentrat yang dilengkapi dengan ICP 0,9 %. Hal ini sesuai dengan pernyataan yang dilaporkan Toelihere (1985) bahwa kualitas spermatozoa dipengaruhi oleh spesies, jenis, umur, pola pemeliharaan dan bahan pengencer yang digunakan.

Tingginya persentase MPU spermatozoa pada kelompok perlakuan penambahan vitamin C dalam pengencer pada proses pendinginan berhubungan dengan kemampuan vitamin C dalam menghambat terjadinya peroksidasi lipid pada membran spermatozoa sebagai akibat meningkatnya senyawa oksigen reaktif dalam pengencer selama pendinginan. Sebagaimana dilaporkan Widjaya (1995) bahwa vitamin C merupakan salah satu vitamin yang bersifat sebagai anti oksidan larut dalam air yang mampu menghambat aktivitas senyawa oksigen reaktif dan mencegah terjadinya reaksi berantai antara senyawa oksigen reaktif dengan asam lemak tak jenuh majemuk yang terdapat pada membran plasma spermatozoa. Vitamin C juga mampu bekerja di dalam dan di luar dinding sel sehingga dapat mengurangi atau mencegah peroksidasi lipid secara lebih luas (Suryohudoyo, 2000; Aitken dkk., 2004). Sebagai antioksidan asam askorbat juga digolongkan sebagai agen pereduksi karena memiliki potensial redoks yang rendah, akan tetapi juga efektif dalam menawan agen oksidasi. Pada sel spermatozoa asam askorbat berperan dalam degradasi ferritin sehingga mencegah kerusakan membran sel yang disebabkan oleh ferrum (Hoffman dkk., 1991). Dengan demikian dapat dibuktikan bahwa penambahan vitamin C di dalam pengencer susu skim dapat mempertahankan dan melindungi membran sel spermatozoa kambing peranakan Boer dari serangan senyawa oksigen reaktif.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis penelitian dan pembahasan dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut;

1. Penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur dapat mempertahankan daya tahan hidup, persentase motilitas dan integritas membran plasma spermatozoa kambing peranakan Boer setelah penyimpanan dingin.
2. Penambahan vitamin C sebanyak 0,2 gr/100 ml pengencer menghasilkan daya tahan hidup, persentase motilitas dan integritas membran plasma utuh spermatozoa kambing peranakan Boer yang terbaik setelah penyimpanan dingin.

### Saran

1. Untuk meningkatkan kualitas semen kambing peranakan Boer yang disimpan dingin sebaiknya hanya menambahkan vitamin C sampai tingkat konsentrasi 0,2 gr/100 ml pengencer.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek penambahan vitamin C terhadap indikator kualitas spermatozoa lainnya seperti daya fertilitasnya dan tingkat kebuntingan setelah inseminasi.

## DAFTAR PUSTAKA

Agarwal, A., R. A. Saleh and M.A. Bedaiwy 2003. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertility and Sterility* 79: 829 – 843

Aitken R. J., E. Gordon, H. Diana, J.P. Twigg, M. Philip, J. Zoe and D.S. Irvine, 1998. Relative impact of oxydative stress on the functional competence and genomic integrity of human spermatozoa. *Biology of Reproduction* 59 : 1037 – 1046

Alawiyah, D dan M. Hartono. 2006. Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam bahan pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen beku Kambing boer, *J.Indon.Trop.Anim.Agric.* 31 [1]

Anhar, M., E.F., Graham, and N. Iqbal. 1997. Post-thaw plasma membrane integrity of bull spermatozoa separated with a sephadex ion – exchange column, *Theriogenology* 10 (4) : 261 – 265

Anonimus, (2007). Laporan Tahunan Dinas Peternakan Propinsi Dearah Istimewa Aceh..

Anonimous. 2003. Petunjuk Penampungan, Produksi, Distribusi dan Evaluasi Semen Beku. Balai insiminasi buatan. Singosari. Malang.

Aurich, J. E., U. Schoneher. H. Hoppe And C. Aurich. 1997. Effect of antioxsidands on motility and membrane integrity of chilled-stored stallition semen. *Theriogenology.* 48:185-192.

Benconi, M. T., C. R. Francia , N.G Mora And M. A Affranchino. 1993. Effect of Natural Antioxsidants om frozen bovine semen preservations. *Theriogenology.*40:841-851.

Chinoy,N. J., E Sequeurina and M. V. Narayana. 1991. Effects of Vitamin C and calciom on the reversibility of fluoridde-indecute alterations in spermatozoa of the rabbits (abstr). *Floride.* 24:29-39.

Combs, F.G. 1992. The Vitamins : Fundamental Aspects in Nutrition and Health. Academic Press Inc., New York.

Curry, M.R and P.F. Watson, 1995. Sperm structure and function in Gametes the Spermatozoon. *Gambridge Reviews in Human Reproduction*, Ed. J.G. Grudzinskas & J.L. Yovich, Cambridge University Press

Dasrul, 2005. Peran Senyawa Oksigen Reaktif Dalam Mekanisme Kerusakan Integritas Membran Spermatozoa Kerbau Lumpur Hasil Sentrifugasi Gradient Densitas Percoll. Disertasi, Program Studi Ilmu Kedokteran Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Surabaya

Darnell J., H. Lodish, and D. Baltimore, 1990. *Moleculer Cell Biology.* 2<sup>nd</sup> edition. *Sci. Am. Books.* Pp. 491 – 527

- Einarsson, S. 1992. Concluding remarks. *In: Influence of Thawing Method on Motility, Plasma Membran Integrity and Morphology of Frozen Stallion Spermatozoa*. Bor. K., B. Colenbrander, A. Fazelli, J. Palleliet and L. Malmgren (Eds.) *Theriogenology* VI. 48th. 1997. pp. 531 – 536.
- Feradis, 2009. Peranan antioksidan dalam pembekuan semen, *Jurnal Peternakan* Vol 6 No 2 September 2009 (63 –70) ISSN 1829 - 8729
- Fuller, G. M. And D. Shields, 1998. *Molecular Basic of Medical Cell Biology*. Prentice Hall International. Inc. USA
- Fraga, C.G., P. A. Motchnik, A.J. Wyrobek and M.K. Shigenaga, 1996. Smoking and low antioxydant levels increase oxidation damage to sperm DNA. *Mutat. Res.*, 351, 199 - 203
- Gangyi, X., Z. Hongping, Z. Chanju, X. Xinghi dan Z. Ming, Z. Yi and Z. Li. 2001. Reserch on Quality, Preservation Dilutor, and Frozen Tecnology of Boer Goat Semen. Conference on Boer Goat in China.
- Glascott, P. A., E. Gilfor, A. Serroni and J. L. Ferber. 1996. Independent Antioxidant action of vitamin E and C in cultured rat hepatocytes intoxicated with allyl alcohol. *Biochem. Pharmacology*. 52. 8: 1254-1262
- Goyal, R.L., R.K. Tuli, G.C. Georgie and D. Chand. 1996. Comparison of quality and freezability of water buffalo semen after washing or sephandex filtration. *Theriogenology*, 46 : 679 – 686
- Herrero M. B., E. de Lamirande and C. Gagnon, 1999. Nitrit oxide regulates human sperm capacitation and protein tyrosine. *Bio of Reprod.* 61 hal; 575 - 58
- Hafez, E. S. E. (2000). Semen Evaluation. *In: Reproduction in Farm Animals*. Hafez, E. S. E. (Ed.) 7<sup>th</sup> ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Hafez, E.S.E. 2004. X- and Y-Chromosome-Bearing Spermatozoa dalam *Reproduction in Farm Animal*, 8<sup>th</sup> ed. Lea & Febiger Philadelphia, USA pp 440 – 446
- Hammerstedt, H.R., 1993. Maintenance of bioenergetic balance in sperm and prevention of lipid peroxidation : A review of the effect on design of storage preservation systems. *Reprod. Fertil. Dev.* 5 : 675 – 690
- Hoffman, K. E., K. Yanelli and K. R Bridges. 1991. Ascorbic acid and iron metabolism:alterations in lysosomal fuctions. *America J. Of Clinic. Nut.* 54.Suppl.6:1188-1192.
- Isnaini, N. (2006). Peranan trehalosa dalam pendinginan dan pembekuan semen kambing Boer. Disertasi Program Studi Ilmu-ilmu Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.
- Jones, R.T. Mann and R.J. Sherins, 1993. Demage to ram spermatozoa by peroxidation of endogenous phospholipids, *J. Reprod. Fertil.* 50 : 261 – 268
- Kelso, K.A. A. Redpath, R.C. Noble and B.K. Speake, 1997. Lipid and antioxidant changes in spermatozoa and seminal plasma throughout the reproductive period of bull. *Journal or Reproduction and Fertility*. 109 : 1 – 9
- Lu, C.D. 2001. Boer Goat Production: Progress and Perspective. [www. Iga goatworld. Org/publication/boer.htm](http://www.iga-goatworld.Org/publication/boer.htm)
- Rizal, M., M. Surachman, Herdis dan A.S. Aku. 2006. Peranan plasma semen dalam mempertahankan kualitas spermatozoa asal epididimis domba yang disimpan pada suhu rendah (3–5oC). *JITV* 11(4): 287-294.
- Salisbury. G. W, Vandemark. N. L., Djanuar. R. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi, Gajah Mada* Universitas Press, Jogjakarta
- Sasongko, H. 2004. Pengaruh Level Sukrosa Dalam Penenceran Dasar Tris Terhadap Kualitas Semen Kambing PE Setelah Pendinginan. Laporan penelitian. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.

- Singh, P., D. Chand and G.C. Georgic. 1992. Lipid peroxydation influence on release of glutamate oxaloacetate transaminase, free fatty acid and fructolytic index of buffalo (*Bubalus Bubalis*) spermatozoa. *Indian Vet. J.* 69: 718 – 720
- Singh, D. M.K. Sharma and R.S. Panday. 1998. Changes in superoxyde dismutase activity and estradiol –17  $\beta$  content in follicles of different size from ruminants. *Indian J. Exp Biol.* 36: 358 – 360
- Situmorang, B. and P. Sitepu. 1991. Comparative Performance, Semen Quality and Draught Capacity of Indonesia Swaap Buffalo and It's Crosses. ACTAR Proceeding, 34 : 102.
- Sorensen, A.M. 1979. *Animal Reproduction* McGraw-Hill Book Company, New York.
- Solihati, N dan P. Kune. 2004. Pengaruh Jenis Pengencer Terhadap Motilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Semen Cair Sapi Simmental. Laporan Penelitian Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran, Bandung.
- Steel, R.G.D and Torrie, 1990. Prinsip dan prosedur statistika suatu pendekatan biometrik. Alih bahasa Bambang Sumantri, PT. Gramedia Pustaka Utama; Jakarta
- Sugiarti, T., E. Triwulanningsih, P. Situmorang, R.G. Sianturi dan D.A. Kusumaningrum. 2004. Penggunaan katalase dalam produksi semen dingin sapi. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 4 – 5 Agustus 2004. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 215 – 220.
- Suyadi, 2003. Pengenceran Semen Kambing Dengan Beberapa Pengencer Sederhana dan Aplikasinya Untuk Insiminsi Buatan. Penerbit Simetrika22. Malang.
- Suyadi, T. Susilawati dan N. Isnaini. 2004. Uji Pembekuan Semen Kambing Boer. Laporan Penelitian. Kerjasama Dotjen Pertenakan – Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.
- Suryohudoyo, P. 2000. Ilmu Kedokteran Molekuler. Cetakan Pertama, Jakarta; CV. Sagung Seto. Hal 31 – 47
- Sudjarwo, 2001. Peran Mitokondria pada fungsi Spermatozoa. Disertasi Pascasarjana Unair Surabaya.
- Toelihere, M.R. 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung Halaman 92 – 120
- Toelihere, M.R. 1981. Biological aspects of reproduction and insemination of swamp buffalo. ASPAC. FFTC. Book Series. Taipei. 15 : 120 – 136
- Yonghong H. 2001. Utilization and Development of Boer Goats. Proceeding of the 2001. conference on Boer Goat in China. Conference on Boer Goat in China.
- Zenichiro. K. Herlantien, Sarastina, 2002. Intruksi Praktis Teknologi Processing Semen Beku Pada Sapi, Jica - BIB Singosari, Malang
- Werdhany, W. I. 2003. Efektivitas Penambahan  $\alpha$  tocoferol di dalam pengencer Tris dan Susu Skim terhadap kualitas semen beku kambing peranakan etawah. Thesis sekolah Pascasarjana IPB-Bogor.
- Wijaya, A. 1996. Radikal bebas dan parameter statur antioksidan. Forum Diagnostikum Prodia Diagnostics Education Services. Pp. 1 – 12